



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
RESIDÊNCIA MULTIPROFISSIONAL EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE
CLÍNICA MÉDICA E CIRÚRGICA DE ANIMAIS SILVESTRES

ANA CAROLINE FREITAS CAETANO DE SOUSA

MELANOMA MELANOCÍTICO ESPONTÂNEO DE ÍRIS EM COELHO (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) NO SEMIÁRIDO POTIGUAR: RELATO DE CASO

MOSSORÓ-RN

2025

ANA CAROLINE FREITAS CAETANO DE SOUSA

MELANOMA MELANOCÍTICO ESPONTÂNEO DE ÍRIS EM COELHO (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) NO SEMIÁRIDO POTIGUAR: RELATO DE CASO

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Programa de Pós- Graduação Residência em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Silvestres.

Linha de Pesquisa: Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Silvestres

Orientador: Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas.

MOSSORÓ

2025

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S725m Sousa, Ana Caroline Freitas Caetano de.
Melanoma melanocítico espontâneo de íris em coelho (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) no semiárido potiguar: relato de caso / Ana Caroline Freitas Caetano de Sousa. - 2025.
28 f. : il.

Orientador: Carlos Iberê Alves de Freitas.
Monografia (graduação) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Curso de , 2025.

1. Cirurgia. 2. Lagomorfos. 3. Neoplasias. 4. Melanoma. 5. Imuno-histoquímica. I. Freitas, Carlos Iberê Alves de, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ANA CAROLINE FREITAS CAETANO DE SOUSA

MELANOMA MELANOCÍTICO ESPONTÂNEO DE ÍRIS EM COELHO (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) NO SEMIÁRIDO POTIGUAR: RELATO DE CASO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Residência em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Silvestres.

Linha de Pesquisa: Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Silvestres

Defendida em: 28 / 02 / 2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Iberê Alves Freitas, (UFERSA)
Presidente

Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira, (UFERSA)
Membro Examinador

Profa. Dra. Juliana Fortes Vilarinho Braga, (UFPI)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, pelos pais e família que me foram concedidos e por nunca me deixar desistir, muito obrigado.

A Bia, Anúbis, Ártemis e Cecília, minhas filhas de 4 patas, desculpa a ausência e obrigado pelos devaneios com vocês.

A meu orientador, Carlos Iberê Alves de Freitas, que aceitou me orientar e por me ajudar a realizar esse sonho da obtenção do título de especialista, muito obrigado. Foram dois anos de entusiasmos, apoio, muito trabalho e dificuldades, e muitos, muitos conselhos.

Aos meus amigos de residências, os surtadinhos, pelos vários momentos de descontração, sensatez e pelas viagens; pelos amigos que a graduação me proporcionou. Gente, muito obrigada!

A minha namorada, meu amor, muito obrigada por todo o apoio de hoje e sempre, sem você eu não teria forças para terminar essa etapa, você foi e é meu ponto de equilíbrio! Te amo!

A cada um dos meus estagiários que fizeram desses dois anos um ambiente agradável, sem vocês esses dois anos não teriam sido possíveis.

A cada paciente que tive o prazer de atender e aprender, meus mais profundos agradecimentos.

Por fim, a todos os colegas, amigos, técnicos administrativos e terceirizados que direta ou indiretamente me ajudaram a alcançar o título de especialista.

RESUMO

Devido ao aumento da expectativa de vida e ao atendimento especializado a descrição de neoplasias vem aumentando em coelhos domésticos, sendo escassos os relatos de ocorrência de melanomas na espécie. O presente trabalho descreve os aspectos clínicos, macroscópicos, histológicos, imuno-histoquímicos e terapêuticos de um melanoma melanocítico de íris em um coelho no semiárido potiguar. Em março de 2024 foi encaminhado ao setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Animais Silvestres do Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia (HOVET), Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, um coelho, fêmea, dois anos de idade, sem raça definida, pesando 2,415 kg, de coloração preto com branca, que tinha como base alimentar era comida humana. Na anamnese, relatou-se atendimento veterinário prévio devido ao surgimento de uma mancha branca, focal, no olho direito, progredindo para hemorragia um dia antes do novo atendimento. Devido ao sangramento ativo e o visível incomodo que o paciente sentia, optou-se pela internação e realização de sedação para limpeza, sendo constatada ruptura do olho, e sido indicada a remoção. Após exérese do bulbo ocular direito, fragmentos foram coletados e fixados em solução de formaldeído a 10% e posteriormente foram submetidos a processamento rotineiro para histopatologia. Na análise histopatológica observou-se áreas de ulceração difusa no epitélio corneal, associado a necrose e processo inflamatório, na íris. Também foi identificada proliferação celular, possuindo células neoplásicas fusiformes, com citoplasma repleto de grânulos marrom-escuros compatíveis com melanina, sugestivo, de melanoma melanocítico de íris. Amostras foram submetidas aos testes imunohistoquímicos para o diagnóstico diferencial e definitivo da neoplasia, com marcadores HMB-45, MART-1/Melan-A, tirosinase e o monoclonal marcador ki67, sendo expresso em todos os anticorpos. Assim, conclui-se que a abordagem clínica e cirúrgica foi eficaz no tratamento de melanoma de íris, devendo essa neoplasia deve ser incluído como diagnóstico para lesões oculares em coelhos.

Palavras-chave: Cirurgia. Lagomorfos. Neoplasias. Melanoma. Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Due to the increase in life expectancy and specialized care, the description of neoplasms in domestic rabbits has been increasing, with scarce reports of melanoma occurrence in the species. The present study describes the clinical, macroscopic, histological, immunohistochemical, and therapeutic aspects of a melanocytic melanoma of the iris in a rabbit in the semiarid region of Rio Grande do Norte. In March 2024, a two-year-old female rabbit, of no defined breed, weighing 2.415 kg, black and white in color, which had its diet based on human food, was referred to the Medical and Surgical Clinic for Wild Animals of the Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia Veterinary Hospital (HOVET), Federal Rural University of Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN. The anamnesis reported previous veterinary care due to the appearance of a focal white spot in the right eye, progressing to hemorrhage one day before the new care. Due to active bleeding and visible discomfort, the patient was admitted and sedated for cleaning. A ruptured eye was found and removal was indicated. After excision of the right eyeball, fragments were collected and fixed in a 10% formaldehyde solution and subsequently submitted to routine processing for histopathology. Histopathological analysis revealed areas of diffuse ulceration in the corneal epithelium, associated with necrosis and inflammation in the iris. Cell proliferation was also identified, with spindle-shaped neoplastic cells, with cytoplasm full of dark brown granules compatible with melanin, suggestive of melanocytic melanoma of the iris. Samples were submitted to immunohistochemical tests for differential and definitive diagnosis of the neoplasia, with markers HMB-45, MART-1/Melan-A, tyrosinase and the monoclonal marker ki67, which was expressed in all antibodies. Thus, it is concluded that the clinical and surgical approach was effective in the treatment of iris melanoma, and this neoplasia should be included as a diagnosis for ocular lesions in rabbits.

Keywords: Surgery. Lagomorphs. Neoplasms. Melanoma. Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	12
1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3. REFERÊNCIAS	13
CAPÍTULO 2	17

1. INTRODUÇÃO

A criação de coelho como animal de estimação aumentou consideravelmente, ao longo do tempo e o aumento no número de atendimentos especializados aumentou a expectativa de modo significativo, levando ao diagnóstico de doenças geriátricas e neoplasias (VAN ZEELAND, 2017). A prevalência de neoplasias espontâneas em uma análise retrospectiva, atingiu taxas de até 47,2% em pacientes acima de seis anos de vida (BERTRAM et al., 2021).

Tumores cutâneos são comuns, sendo responsável por 47% dos achados histopatológicos, e dentre as neoplasias de pele, os melanomas cutâneos são raramente observados tendo uma taxa de prevalência de 4,2%, conforme estudo retrospectivo de 190 casos (ABBATE et al., 2023). Tumores melanocíticos foram observados em região cabeça, envolvendo a pálpebra e o pavilhão auricular, podendo estar relacionado aos raios ultravioletas, visto que desempenhado um papel cancerígeno (BAUM, 2021). Nesta espécie possuem características que indicam ser agressivos, como invasões em linfovascular, além do seu potencial metastático (UEDA et al., 2018).

Os melanomas são tumores que surgem da proliferação descontrolada dos melanócitos, embora a forma mais comum seja a cutânea, este pode surgir em superfícies mucosas, do olho e das leptomeninges (VAN DER WEYDEN et al., 2020). Dentre as neoplasias oculares, os melanomas são as principais neoplasias descritas em animais de companhia, sendo classificados de acordo com o local de origem no globo ocular (VAN DER WEYDEN et al., 2020), mas em coelhos informações sobre esse tipo de patologia ocular ainda são raros. Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo descrever os aspectos clínicos, macroscópicos, histológicos, imuno-histoquímicos e terapêuticos de um melanoma melanocítico de íris em um coelho (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) no semiárido potiguar, Brasil.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A ordem Lagomorpha apresenta duas famílias, os Ochotonidae, representada pelas pikas e os Leporidae composta pelos coelhos e lebres (RUEDAS; MORA; LANIER, 2018). Os lagomorfos são mamíferos herbívoros que estão distribuídos em diversos habitats ao redor do globo, desde tundras até florestas tropicais. Os coelhos, como já referenciado, são representantes dessa ordem, e nos últimos anos passaram pelo processo de domesticação se popularizando como animal de estimação (GÁLVEZ et al., 2008). Levando ao aumento nos atendimentos especializados, e em consequência disto a um aumento na expectativa de vida, ocasionando o diagnóstico de doenças geriátricas e neoplasias (VAN ZEELAND, 2017).

A etiologia das distintas patologias em lagomorfos são primordialmente multifatoriais, estando relacionadas a condições de manejo inadequadas, a exemplo os distúrbios nutricionais, metabólicos, genéticos, etários e traumáticos. Distintas neoplasias podem afetar os lagomorfos, mas o adenocarcinoma uterino é comum em coelhas, podendo ser descritos ainda os linfomas, carcinomas mamários, tumores testiculares e os cutâneos (DELANEY; TREUTING; ROTHENBURGER, 2018).

Com o aumento da expectativa de vida, o surgimento de doenças degenerativas e as neoplasias tornaram-se frequentes. Sabe-se que em coelhos pode haver dois mecanismos causadores de neoplasias, tumores induzidos por vírus e os não induzidos. Fatores epidemiológicos, como idade, raça e sexo estão associadas aos riscos de desenvolvimento de tumores (SUCHAWAN PORNSUKAROM et al., 2023). A prevalência de neoplasias espontâneas em uma análise retrospectiva, atingiu taxas de até 47,2% em pacientes acima de seis anos de vida (BERTRAM et al., 2021).

Tumores cutâneos são comuns, sendo responsável por 47% dos achados histopatológicos, e dentre as neoplasias de pele, os melanomas cutâneos são raramente observados tendo uma taxa de prevalência de 4,2% em um estudo retrospectivo de 190 casos (ABBATE et al., 2023). Os melanomas são tumores que surgem da proliferação descontrolada dos melanócitos, embora a forma mais comum seja a cutânea, este pode surgir das superfícies mucosas, do olho e das leptomeninges (VAN DER WEYDEN et al., 2020).

Melanomas já foram descritos em região do pavilhão auricular, inguinal, escrotal, vulvar, palpebral e extremidades de membros em coelhos (BERTRAM et al., 2020; FURUJO et al., 2022). Nesta espécie possuem características que indicam ser agressivos, como invasão linfovascular, além do seu potencial metastático (UEDA et al., 2018). Tumores melanocíticos

foram observados em região cabeça, envolvendo a pálpebra e o pavilhão auricular, o que pode estar relacionado à exposição aos raios ultravioletas e seu papel cancerígeno (BAUM, 2021).

A etiologia dos melanomas oculares espontâneos é pouco esclarecida, porém alguns fatores podem acarretar esta enfermidade, como genética, lesões na região pigmentada, exposição à radiação ultravioleta ou possíveis infecções virais (POLTON et al., 2024). Relatos de melanomas oculares induzidos em coelhos são encontrados na literatura, pois a espécie é amplamente utilizada como modelo animal para o melanoma ocular humano (UNER et al., 2022; GUIMARÃES et al., 2022).

O diagnóstico pode ser realizado por meio de exame citológico, onde observa-se a presença de grânulos de melanina, sendo que raramente as pigmentações podem estar ausentes dificultando ou mesmo impossibilitando o diagnóstico. No histopatológico, algumas histoquímicas podem ser realizadas para evidenciar a presença de melanina, como a Fontana-masson (preto), Schmorl e a coloração azul de prussian para diferenciar melanina de hemossiderina. A imuno-histoquímica fornece o diagnóstico definitivo de melanoma amelanótico, quando não existe a presença de melanina, marcadores como Melan-A e a tirosina são úteis e possuem uma sensibilidade de 81,6% e de 55,15%, respectivamente (POLTON et al., 2024).

Após o diagnóstico as possibilidades podem ser avaliadas, na tentativa de tratar a neoplasia sem comprometer a qualidade de vida do paciente. O tratamento recomendado para cães e gatos, consiste na ressecção cirúrgica associado a margens amplas, juntamente com a excisão de linfonodos regionais. Quando a cirurgia não é possível, a utilização de radioterapia pode ser considerada, além disso, as imunoterapias consistem no tratamento ideal para lesões microscópicas, desde que as lesões macroscópicas sejam controladas. Existindo uma vacina contra o melanoma maligno em estágio 2 e 3 com controle tumoral local. (POLTON et al., 2024).

O prognóstico de melanomas oculares é favorável desde que a enucleação seja realizada antes da infiltração neoplásica na esclera e nervo óptico (CORRÊA et al., 2016). Esse tipo de neoplasia, possui baixo potencial metastático quando removido em estágios iniciais (CORRÊA et al., 2016), sendo a via hematogênica a principal disseminadora em casos de melanomas oculares, seguida pela disseminação retrógrada pelo nervo óptico (POLTON et al., 2024).

REFERÊNCIAS

BAUM, B. Not just uterine adenocarcinoma—neoplastic and non-neoplastic masses in domestic pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): a review. **Veterinary Pathology**, v. 58, n. 5, p. 890-900, 2021.

BERTRAM, C. A.; BERTRAM, B.; BARTEL, A.; EWRINGMANN, A.; FRAGOSO-GARCIA, M. A.; ERICKSON, N. A.; MÜLLER, K.; KLOPFLEISCH, R. Neoplasia and Tumor-Like Lesions in Pet Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): A Retrospective Analysis of Cases between 1995 and 2019. **Veterinary Pathology**. 2021, 58, 901–911.

BRANDÃO, J.; BLAIR, R.; KELLY, A.; FOWLKES, N.; SHIOMITSU, K.; ESPINHEIRA GOMES, F.; RICH, G.; TULLY, T. N. Amelanotic Melanoma in the Rabbit: A Case Report with an Overview of Immunohistochemical Characterization. **Journal of Exotic Pet Medicine**, 24 (2), pp. 193–200, 2015.

CORRÊA, L. F. D.; CHAVES, R. O.; DE OLIVEIRA, M. T.; FERANTI, J. P. S.; COPAT, B.; NETO, D. N. P.; LUIS PIPPI, N. Melanoma of the Iris, Ciliary Body and Choroid in a Dog's Poodle. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 4-4, 2016.

DELANEY, M. A.; TREUTING, P. M.; ROTHENBURGER, J. L. Lagomorpha. In: TERIO, K. A.; MCALOOSE, D.; JUDY ST LEGER. (org). *Pathology of Wildlife and Zoo Animals*. Elsevier eBooks, 2018. p.481-498.

FURUJO, T.; SUNDEN, Y.; HORIGUCHI, M.; MORITA, T.; TANAKA, T.; TEZUKA, T.; OSAKI, T. A case of malignant melanoma, a possible primary site in the digit, with systemic metastasis in a mini-Rex. **Journal of Veterinary Medical Science**, 84 (12), pp. 1574–1578, 2022.

GÁLVEZ, L.; LÓPEZ-PINTOR, A.; MIGUEL, J. M.; ALONSO, G.; RUEDA, M.; REBOLLO, S.; GÓMEZ-SAL, A. Ecosystem Engineering Effects of European Rabbits in a Mediterranean Habitat. In: **Lagomorph Biology: Evolution, Ecology, and Conservation**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, p. 125-139, 2008.

HAMMER, M.; WEIGNER, F.; KLOPFLEISCH, R. Cutaneous melanomas in rabbits: rare but often fatal. **Veterinary Science Development**, v. 1, n. 1, p. e9-e9, 2011.

HAMMER, M.; WEIGNER, F.; KLOPFLEISCH, R.; Cutaneous melanomas in rabbits: rare but often fatal. **Veterinary Science Development**, 1 (1), e9–e9, 2011.

POLTON, G.; BORREGO, J. F.; CLEMENTE-VICARIO, F.; CLIFFORD, C. A.; JAGIELSKI, D.; KESSLER, M.; KOBAYASHI, T.; LANORE, D.; QUEIROGA, F. L.; ROWE, A. T.; VAJDOVICH, P.; BERGMAN, P. J. Melanoma do cão e do gato: Consenso e diretrizes. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, p. 1359426, 2024.

PORNSUKAROM, S.; SUDJAIDEE, P.; RATIPUNYAPORNKUM, N.; TUNGJITPEANPONG, T.; CHETTANAWANIT, A.; AMORNTEPARAK, C.; SANANMUANG, T. Analysis of occurrence and risk factors associated with pet rabbits' tumors in Central Thailand. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 85, n. 12, p. 1341–1347, 1 jan. 2023.

RUEDAS, L. A.; MORA, J. M.; LANIER, H. C. Evolution of Lagomorphs. In: SMITH, A. T. et al. (org.). *Lagomorphs: pikas, rabbits, and hares of the world*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2018, p. 4-8.

TANNO, D. R.; GRAELL, A. S.; BRUNO, S. F. Levantamento das principais afecções em pequenos mamíferos de companhia em clínica veterinária de São Paulo, Brasil. Anais do XVII Congresso e XXIII Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, São Paulo, p. 80-82, out. 2014.

UEDA, K.; UEDA, A.; OZAKI, K. Cutaneous malignant melanoma in two rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 80, n. 6, p. 973-976, 2018.

UNER, O. E.; GANDRAKOTA, N.; AZARCON, C. P.; GROSSNIKLAUS, H. E. Animal models of uveal melanoma. **Annals of Eye Science**, v.7, n.15, p. 1–7, 2022.

VAN DER WEYDEN, L.; BRENN, T.; PATTON, E. E.; WOOD, G. A.; ADAMS, D. J. Spontaneously occurring melanoma in animals and their relevance to human melanoma. **The Journal of pathology**, v. 252, n. 1, p. 4-21, 2020.

VAN ZEELAND, Y. Rabbit oncology: diseases, diagnostics, and therapeutics. **Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice**, v. 20, n. 1, p. 135-182, 2017.

VON BOMHARD, W., GOLDSCHMIDT, M. H., SHOFER, F. S., PERL, L., ROSENTHAL, K. L., MAULDIN, E. A. Cutaneous neoplasms in pet rabbits: a retrospective study. **Veterinary Pathology**, v. 44, n. 5, p. 579-588, 2007.

CAPÍTULO 2 – Spontaneous melanocytic melanoma of the iris in a rabbit (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) in the semiarid region of Rio Grande do Norte: case report

(Relato de Caso)

SUBMISSION ON RESEARCH IN VETERINARY SCIENCE

QUALIS: Quadriênio 2017-2020: A1

FATOR DE IMPACTO (2025): 2.2

1. Introduction

Melanocytic neoplasms, such as melanomas, melanocytomas and melanoacanthomas, are characterized by melanin accumulation in neoplastic cells (Goldschmidt, Goldschmidt, 2017). Melanomas can be categorized as melanotic when in the presence of melanin, or amelanotic in the absence of this component, making diagnosis challenging (Goldschmidt, Goldschmidt, 2017; Friedrichs, Young, 2020).

In veterinary oncology, melanomas in companion animals are frequent, especially in dogs (Weyden et al., 2020; Goldschmidt, Goldschmidt, 2017; Brandão et al., 2015), although they are rare in wild and exotic animals (Weyden et al., 2020). They are frequently reported as primary skin, mucous membranes, eye and leptomeninge neoplasms (Weyden et al., 2020; Goldschmidt, Goldschmidt, 2017), exhibiting a broad metastatic capacity (Goldschmidt, Goldschmidt, 2017; Weyden et al., 2020; Furujo et al., 2022).

Reports of melanomas in rabbits are scarce, although the cutaneous form has been described in this species (Yasuda et al., 2013; Ueda et al., 2018; Furujo et al., 2022). Among ocular neoplasms, melanomas are the main neoplasms described in companion animals, categorized according to the eyeball origin site, although information on this type of ocular pathology is still rare for rabbits (Weyden et al., 2020). In this sense, this report aims to describe the clinical, macroscopic, histological, immunohistochemical and therapeutic aspects of a melanocytic iris melanoma in a rabbit (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) in the semiarid region of the state of Rio Grande do Norte, Brazil.

2. Case Report

In March 2024, a two-year-old female rabbit, indeterminate breed, weighing 2.415 kg, black and white with dark ear and periorbital regions, was referred to the Wild Animal Medical and Surgical Clinic sector of the Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia Veterinary Hospital (HOVET), belonging to the Federal Rural Semi-Arid University (UFERSA),

Mossoró, RN. Its diet was based on human food (rice, pasta, chicken, among others), leaves, fruits, and commercial feed. During the anamnesis, a history of veterinary care was reported approximately seven days prior due to the appearance of a focal white spot in the right eye, progressing to hemorrhage one day before the new care. Due to active bleeding and visible discomfort, the rabbit was hospitalized, and sedation was performed for cleaning.

During the clinical evaluation, the animal presented a body score of 3/5, normothermia, pale mucous membranes, 7% dehydration, normal cardiac and respiratory auscultation, slightly increased heart and lung rates, gastric hypomotility, tympanic sound on abdominal percussion and absence of feces during the consultation and in the transport box. Enophthalmos was observed during the ophthalmic examination, with the periorbital region was with dried blood. During cleaning, a large clot occluding the eye was removed, allowing for the observation of eyeball rupture. Finally, an extensive corneal ulcer was identified on the medial face of the eye, and ocular bulb removal was indicated, due to the observed extensive lesions and rupture.

During hospitalization, tramadol (BID, IM, 3 mg/kg, 05 days), enrofloxacin (SID, IM, 5 mg/kg, 07 days), dipyrone (BID, IM, 20 mg/kg, 05 days), simethicone (BID, OR, 75 mg/kg, 03 days), mineral oil (BID, OR, 1ml/kg, 03 days), probiotic organew paste (SID, OR, 1 gram, 15 days) and lactulose (BID, OR, 1ml/kg, 03 days), as well as fluid therapy with lactated Ringer's solution at 60ml/kg/24h, were intravenously administered through the marginal auricular vein with the aid of a 24G catheter. After two days of hospitalization, the patient was discharged to continue oral drug therapies at home, with a return in three days for preoperative examinations.

Once the rabbit was ready to undergo the procedure, it was administered inhalation anesthesia using isoflurane. Due to ocular bulb rupture, the transpalpebral enucleation technique was employed to avoid contamination, since a retrobulbar abscess was suspected.

First, a wide trichotomy of the periorbital region was performed, and the region was cleaned with a 2% chlorhexidine antiseptic. Antisepsis was performed with 0.5% alcoholic chlorhexidine and 2% chlorhexidine antiseptic, the first being applied three times and the last left acting for 5 minutes. Initially, tarsorrhaphy was performed with 3-0 nylon suture in a simple continuous pattern, followed by an elliptical skin incision in the right orbicularis layer, parallel to 4 to 5 mm from the eyelid margins with a scalpel (Bard Parker no. 15). The subcutaneous tissues were then dissected using small curved Metzenbaum scissors around the ocular bulb, maintaining the dissection plane outside the conjunctival sac until the optic pedicle was clamped. Due to the presence of a large retrobulbar venous plexus in rabbits, an adaptation of this technique was performed, using a ligature with 3-0 poliglecaprone suture before removing the eyeball. After eyeball excision, the orbital cartilage was sutured in a simple continuous pattern with 3-0 poliglecaprone suture to avoid intraorbital skin recession and, finally, the skin was sutured using the same pattern and suture.

After right ocular bulb excision, longitudinal sections were obtained, revealing a black intraocular mass, with a fibroelastic consistency and granular appearance. The fragments were fixed in a 10% formaldehyde solution and subsequently submitted to routine histopathology processing, sliced into 5 µm sections and stained using hematoxylin and eosin as described by Tolosa et al. (2003). The slides were then observed under a light microscope (Leica DM 500 HD) with an attached camera (Leica ICC50W) and images were obtained using the LAS EZ Ink software.

A histopathological analysis revealed a diffuse ulceration area in the corneal epithelium (Figure 2A), associated with the presence of necrotic cellular debris and an inflammatory process evidenced by a dense infiltrate of neutrophils, monocytes, and macrophages in the corneal stromal tissue (Figure 2A, inset). A densely cellular proliferation composed of spindle-shaped neoplastic cells with cytoplasm full of dark brown granules

compatible with melanin was identified in the iris region (Figure 2B), hindering visualization of most cell nuclei (Figure 2C). Karyomegaly with coarse, irregular chromatin and prominent nucleoli was noted in cells with visible nuclei. Four to eight mitotic figures were also observed per higher magnification field (40x), therefore suggestive of melanocytic iris melanoma.

Lesion samples were subjected to immunohistochemical tests for a differential and definitive neoplasia diagnosis. To this end, melanoma cocktail polyclonal antibodies were used, consisting of the markers HMB-45, MART-1/Melan-A, tyrosinase and the monoclonal marker ki67. Antigen recovery was performed by the moist heat method using a steam cooker for 20-30 minutes. Incubation with the primary antibodies was carried out overnight at 4°C. The Advance system was used for development. Staining was performed with 3,3'-diaminobenzidine (DAB) and counterstaining with hematoxylin. External and internal controls were used to validate the reaction. All melanoma cocktail antibodies were expressed, demonstrated by the brown staining of the DAB chromogen in neoplastic cells (Figure 2D).

3. Discussion

This is the first report of a spontaneous ocular melanoma case in a rabbit in northeastern Brazil, confirmed by histopathological and immunohistochemical analyses, displaying therapeutic success following the clinical-surgical treatment described herein. Melanomas have already been described in the auricle, inguinal, scrotal, vulvar, palpebral region and extremities of limbs in rabbits (Bertram et al., 2020; Furujo et al., 2022). **Table 1** lists the reports of 29 cases of spontaneous melanomas in rabbits. Only one of those studies reported two uveal melanoma cases in the species, based on a survey of 28 performed biopsies.

Due to the increased life expectancy of rabbits, neoplasia diagnoses in this species have become frequent in recent years (Abbate et al., 2023). The highest prevalence of these

neoplasias is noted in the female reproductive tract, hematopoietic system, skin, mammary tissue, testicles, and digestive system (Bertram et al., 2020). Melanomas in rabbits are considered rare (Yasuda et al., 2013; Furujo et al., 2022), occurring mainly in males over three years old (Furujo et al., 2022), unlike herein, in which the animal was a two-year-old female. The etiology of spontaneous ocular melanomas is poorly understood, but certain specific factors may be involved, such as genetics, lesions in the pigmented region, exposure to ultraviolet radiation, and viral infections (Polton et al., 2024). Reports of ocular melanomas induced in rabbits are available in the literature, as the species is widely used as an animal model for human ocular melanoma (Blanco et al., 2000; Uner et al., 2022; Guimarães et al., 2022).

No evidence of metastases was observed in this study, and only one assessment in the literature describes spontaneous ocular melanomas in rabbits, with no reported metastases (Bertram et al., 2020). However, melanomas exhibit high metastatic capacity, mainly affecting the heart, liver, spleen, diaphragm, central nervous system, lymphatic system, skeletal muscle and inguinal region (Weyden et al., 2020; Furujo et al., 2022). The clinical signs of ocular melanocytic neoplasms in dogs and cats are quite nonspecific, varying according to the macroscopic and microscopic destruction and disarray of anatomical eye structures (Guimarães et al., 2021; Polton et al., 2024), causing visual loss, corneal opacity, hyphema, endophthalmitis, anterior uveitis, retinal detachment, epiphora and/or the presence of expansive and invasive neoformations (Guimarães et al., 2021; Polton et al., 2024).

No records of clinical signs in rabbits with ocular melanomas are available to date, emphasizing the importance of this study regarding clinical aspects, stabilization, surgical treatment and post-surgical conduct in rabbits presenting iris melanoma. Clinical signs, such as hypomotility, reducing the amount of feces, increased heart and respiratory rate and scratching behavior in the affected region are general pain signs in these animals. Lameness is

a characteristic symptom of cutaneous melanomas present in digits (Furujo et al., 2022). In contrast, eyelid melanomas do not cause discomfort in affected animals, as described herein (Brandão et al., 2015).

In this case, the transpalpebral technique was proven effective, with very little hemorrhage during surgery, possibly due to the ligature adaptation before sectioning the optic pedicle. The transpalpebral approach provides a reduced chance of leaving infectious or neoplastic material in the eyeball and its adnexa (Holmberg, 2007). This was especially true in the case of the animal in this report, where, due to the severity of the ocular involvement, a preventive technique was used to prevent contamination, given the likelihood of a retrobulbar abscess. This hypothesis was ruled out after eyeball excision and opening. Furthermore, transconjunctival enucleation is the safest method in exotic animals, due to decreased post-surgical hemorrhages (Holmberg, 2007).

All melanoma cocktail antibodies were expressed in iris melanoma described in this report. The melanoma cocktail is widely used in the routine diagnosis of canine and feline melanoma cases (Polton et al., 2024). The antibodies MART-1/Melan-A, S100 protein, HMB-45, PNL2 and Ki-67 have already been employed in immunohistochemical tests concerning melanocytic (Van Zeeland, 2017; Ueda et al., 2018; Abbate et al., 2023) and amelanocytic (Zerfas et al., 2010) melanomas in rabbits. The number of cells labeled with Ki-67 is used to classify the malignancy degree of canine melanomas, and a reduced survival rate is noted in cases where the positivity of this marker exceeds 12.35-19.5% (Ueda et al., 2018; Bergin et al., 2011). In this report, Ki-67 expression was observed in 12% of the 500 counted cells. However, its use for the prognosis of intraocular melanomas in rabbits requires further studies.

Finally, it is important to note that, to date, the patient did not present any complications after the adopted procedures, with a good prognosis. In small animal clinics,

the prognosis of ocular melanomas is reasonable if enucleation occurs before neoplastic infiltration of the sclera and optic nerve (Corrêa et al., 2016). In this case, up to the time of submission of this report, no evidence of metastases was observed. Iris melanomas have low metastatic potential when removed in early stages (Dubielzig, 2017; Rushton et al. 2019) compared with anterior uveal neoplasms (Corrêa et al., 2016). In advanced cases of diffuse iris melanoma in cats, metastases can occur in the liver, lungs and kidneys (Dubielzig, 2017). The hematogenous route is the main disseminator in cases of ocular melanomas, followed by retrograde dissemination through the optic nerve (Polton et al., 2024).

Conclusion

Melanoma should be included as a diagnosis for ocular lesions in rabbits. Eyeball excision using the transpalpebral technique is effective for staging this neoplasia, providing a good prognosis and increasing the life expectancy of affected animals.

References

- Abbate, J. M., Palazzolo, S., Ieni, A., Rapisarda, G. S., Lanteri, G., 2023. Cutaneous Malignant Melanoma with Testicular Metastases in a Wild Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Vet. Sci., 10 (7), pp. 471. <https://doi.org/10.3390/vetsci10070471>
- Bergin, I. L., Smedley, R. C., Esplin, D. G., Spangler, W. L., Kiupel, M., 2011. Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma. Vet. Pathol., 48 (1), pp. 41–53. <https://doi.org/10.1177/0300985810388947>
- Bertram, C. A., Bertram, B., Bartel, A., Ewringmann, A., Fragoso-Garcia, M. A., Erickson, N. A., Müller, K., Klopffleisch, R., 2021. Neoplasia and Tumor-Like Lesions in Pet Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): A Retrospective Analysis of Cases Between 1995 and 2019. Vet. Pathol., 58 (5), pp. 901–911. <https://doi.org/10.1177/0300985820973460>

- Blanco, G., Saornil, A. M., Domingo, E., Diebold, Y., López, R., Rábano, G., Tutor, C. J., 2000. Uveal melanoma model with metastasis in rabbits: effects of different doses of cyclosporine A. *Curr. Eye. Res.*, 21 (3), pp. 740–747.
- Bomhard, W., Goldschmidt, M. H., Shofer, F. S., Perl, L., Rosenthal, K. L., Mauldin, E. A., 2007. Cutaneous neoplasms in pet rabbits: a retrospective study. *Vet. Pathol.*, 44 (5), pp. 579–588. <https://doi.org/10.1354/vp.44-5-579>
- Brandão, J., Blair, R., Kelly, A., Fowlkes, N., Shiomitsu, K., Espinheira Gomes, F., Rich, G., Tully, T. N., 2015. Amelanotic Melanoma in the Rabbit: A Case Report with an Overview of Immunohistochemical Characterization. *J. Exot. Pet. Med.*, 24 (2), pp. 193–200. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2015.04.009>
- Corrêa, L. F. D., Chaves, R. O., Oliveira, M. T., Feranti, J. P. S., Copat, B., Neto, D. N. P., Pippi, N. L., 2016. Melanoma of the Iris, Ciliary Body and Choroid in a Dog's Poodle. *Acta Sci. Vet.*, 44 (1), pp. 1-4. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.84464>
- Dubielzig, R. R., 2017. Tumors of the eye. In D.J. Meuten (Ed.), *Tumors in domestic animals*. Ames, IA: John Wiley & Sons Inc, pp. 892-922.
- Friedrichs, K. R., Young, K. M., 2020. Diagnostic cytopathology in clinical oncology. In D. M. Vail, D. H. Thamm, J.M. Liptak (Eds.), *Withrow and MacEwen's small animal clinical oncology*. St. Louis, MO: Elsevier, pp. 126-145.
- Furujo, T., Sunden, Y., Horiguchi, M., Morita, T., Tanaka, T., Tezuka, T., Osaki, T., 2022. A case of malignant melanoma, a possible primary site in the digit, with systemic metastasis in a mini-Rex. *J. Vet. Med. Sci.*, 84 (12), pp. 1574–1578. <https://doi.org/10.1292/jvms.22-0181>
- Goldschmidt, M. H., Goldschmidt, H., 2017. Epithelial and melanocytic tumors of the skin. In D. J. Meuten, *Tumors in domestic animals*. Ames, IA: John Wiley & Sons Inc, pp. 48-141.
- Guerra Guimarães, T., Menezes Cardoso, K., Tralhão, P., Marto, C.M., Alexandre, N., Botelho, M.F., Laranjo, M., 2021. Current Therapeutics and Future Perspectives to Ocular

- Melanocytic Neoplasms in Dogs and Cats. *Bioengineering* (Basel), 8 (12), pp. 225.
<https://doi.org/10.3390/bioengineering8120225>
- Hammer, M., Weigner, F., Klopfleisch, R., 2011. Cutaneous melanomas in rabbits: rare but often fatal. *Vet. Sci. Dev.*, 1 (1), e9–e9. <https://doi.org/10.4081/vsd.2011.3414>
- Holmberg, B.J., 2007. Enucleation of Exotic Pets. *J. Exot. Pet. Med., Ophthalmology* 16 (2), pp. 88–94. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2007.03.011>
- Polton, G., Borrego, J. F., Clemente-Vicario, F., Clifford, C. A., Jagielski, D., Kessler, M., Kobayashi, T., Lanore, D., Queiroga, F. L., Rowe, A. T., Vajdovich, P., Bergman, P.J., 2024. Melanoma of the dog and cat: consensus and guidelines. *Front. Vet. Sci.*, 11, 1359426. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1359426>
- Rushton, J. G., Korb, M., Kummer, S., Reichart, U., Fuchs-Baumgartinger, A., Tichy, A., Nell, B., 2019. Protein expression of KIT, BRAF, GNA11, GNAQ and RASSF1 in feline diffuse iris melanomas. *Vet. J.*, 249, pp. 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.04.008>
- Tolosa, E. M. C., Rodrigues, C. J., Behmer, O. A., Freitas Neto A. G. D., 2003. Manual de técnicas para histologia: normal e patológica. In: *Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica*. Barueri: Manole, pp.331-331.
- Ueda, K., Ueda, A., Ozaki, K., 2018. Cutaneous malignant melanoma in two rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Vet. Med. Sci.*, 80 (6), pp. 973–976. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0081>
- Uner, O. E., Gandrakota, N., Azarcon, C. P., Grossniklaus, H. E., 2022. Animal models of uveal melanoma. *Ann. Eye. Sci.*, 7, pp 1–7. <https://doi.org/10.21037/aes-21-30>
- Van Zeeland, Y., 2017. Rabbit oncology: Diseases, diagnostics, and therapeutics. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.*, 20 (1), 135-182. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvex.2016.07.005>

Weyden, L., Brenn, T., Patton, E.E., Wood, G.A., Adams, D.J., 2020. Spontaneously occurring melanoma in animals and their relevance to human melanoma. *J. Pathol.*, 252 (1), pp. 4–21. <https://doi.org/10.1002/path.5505>

Yasuda, Y., Yoshimoto, N., Mori, N., Yoshimoto, R., 2014. Four Cases of Melanoma in Rabbits. *J. Vet. Med. Sci.*, 23 (3), pp. 107-110.

Zerfas, P.M., Brinster, L.R., Starost, M.F., Burkholder, T.H., Raffeld, M., Eckhaus, M.A., 2010. Amelanotic Melanoma in a New Zealand White Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet. Pathol.*, 47 (5), pp. 977–981. <https://doi.org/10.1177/0300985810369898>

Table 1. Reports of melanomas in rabbits (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) described in the available literature and published between 2007 and 2024.

Case	Sex		Age (years)	Primary site	Histopathological diagnosis and immunohistochemistry	Metastases	Reference
	M	F					
1	1		5	Pelvic limb digit	Cutaneous malignant melanoma. Positive for PNL2 and S-100.	Lung, heart, liver, spleen, kidneys, stomach, adrenal glands, pituitary gland, trachea, lymph nodes, muscles, and bone marrow.	Furujo et al., 2022
2	1		8	Scrotum	Cutaneous malignant melanoma. Neoplastic cells positive for HMB-45, Melan-A, and S-100.	No metastasis	Abbate et al., 2023
3		1	7-10	Left eyelid	Cutaneous amelanotic melanoma. Neoplasm positive for Melan-A and vimentin and failed to express pancytokeratin markers AE1/AE3 and MNF	No metastasis	Brandão et al., 2015
4	1		4	Scrotum	Cutaneous malignant melanoma. Tumor cells were positive for markers (HMB-45, PNL2, melan A, and S100) and Ki 67	Lung, liver, spleen, kidneys	Ueda et al., 2018
	1		10	Right eyelid		Lung, liver, spleen, kidneys	

5	1		4	Inguinal region	Cutaneous melanotic melanoma. Tumor cells were epitheloid in shape, had anisokaryosis with large nucleoli and an erratic pigmentation	Lung, liver, pleura	Hammer et al., 2011
6 - 20	-	-	Average of 5 years and 7 months	Dermis and eye region	Cutaneous melanoma (13 melanotic and 1 amelanotic). melan-A (MART-1) and All melanomas with abundant melanin pigment were used as positive controls for melan-A IHC after partial bleaching.	Not reported	Bertram et al., 2020
21 - 29	6 (M)	2 (F)	2 - 8	Auricle (3), eyelid (3), head (1), perivulvar skin (1), scrotum (1), thigh (1) and knee (1)	Cutaneous melanoma. epitheloid to spindle cells, anisocytosis and anisokaryosis were accentuated and the mitotic index was high (4 to 20 per ten 40× fields), presence of abundant melanin.	Not reported	Von Bomhard et al., 2007

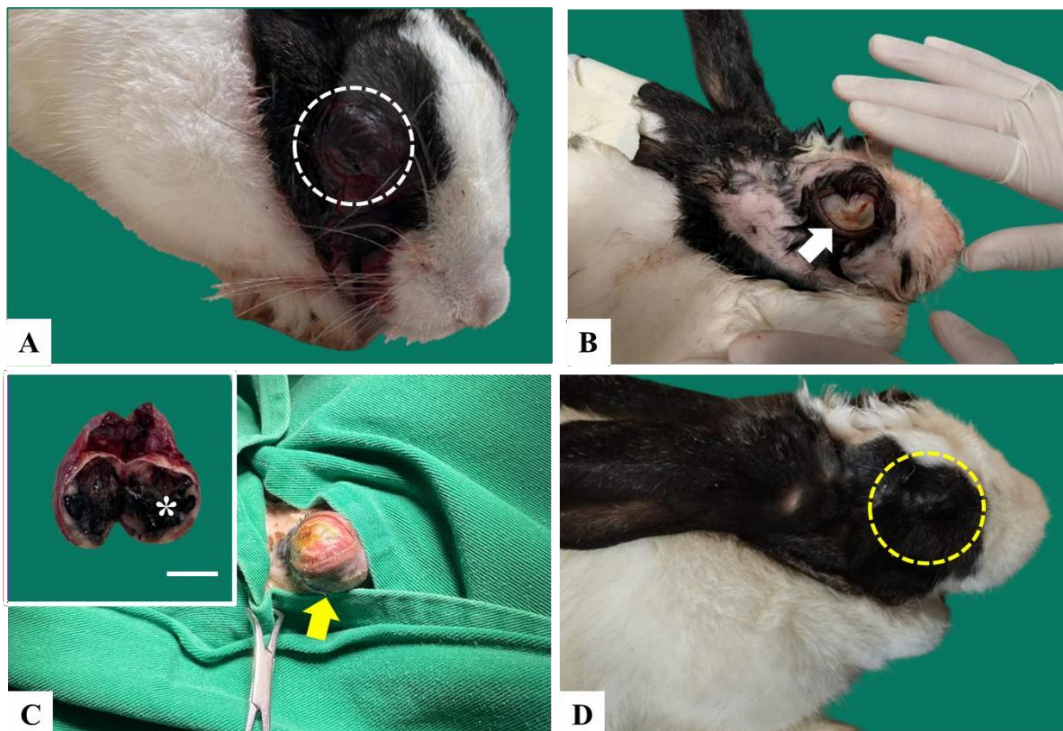


Figure 1. Pre- and postoperative clinical and surgical characteristics of a rabbit (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758) presenting melanocytic iris melanoma. (A) Orbital and periorbital region showing signs of active hemorrhage due to blood imbibition in the animal's fur (dashed circle), (B) Visualization of extensive corneal ulcer and rupture of the globe (white arrow) after cleaning and removal of the blood clot. (C) Transsurgical image showing intense exophthalmos of the right eyeball (yellow arrow); highlight: longitudinal section of the eyeball after enucleation, showing a black mass (asterisk). (D) Animal 20 days after surgery, showing complete recovery and surgical healing and with fur growth in the area (yellow circle).

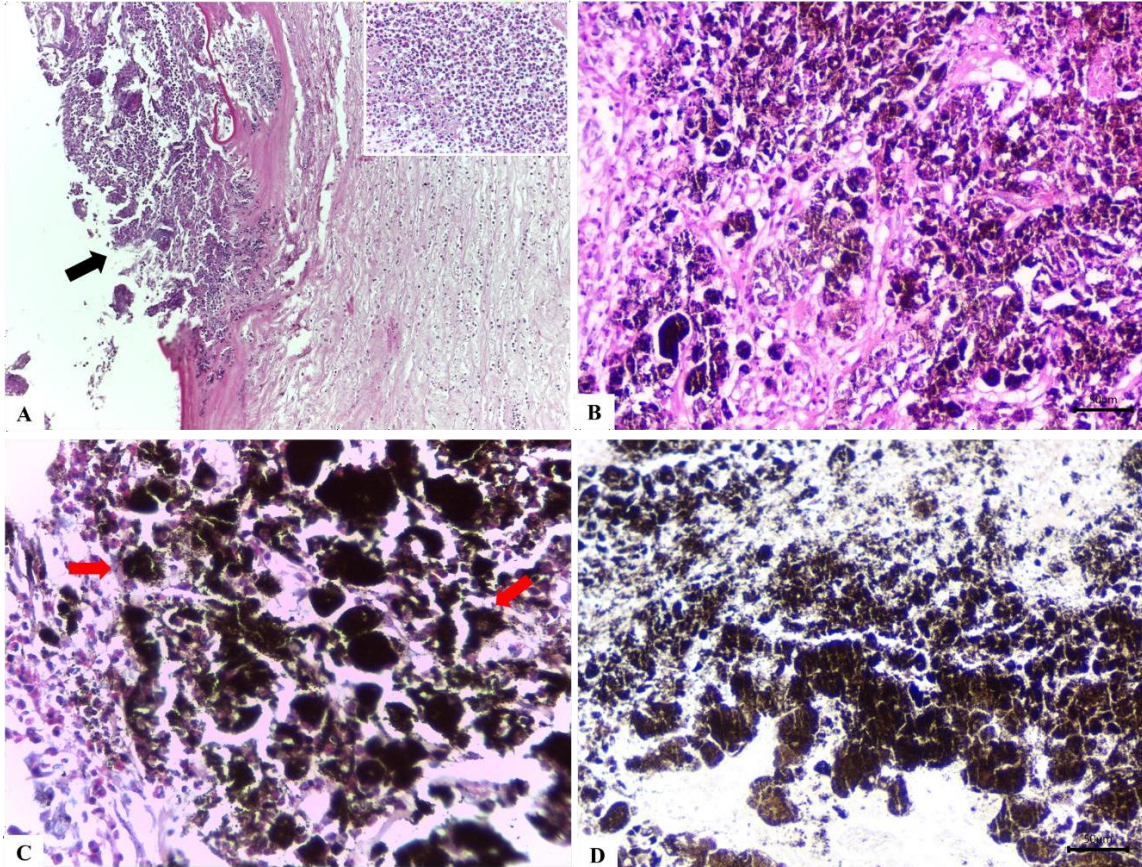


Figure 2. Histopathology and immunohistochemistry of melanocytic iris melanoma in a rabbit (*Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758). (A) corneal epithelium ulceration area associated with necrotic cellular debris and an inflammatory process (black arrow) composed of neutrophils, monocytes, and macrophages (inset, HE, 40x). HE, 10x. (B) Densely cellular proliferation in the iris region composed of spindle-shaped neoplastic cells with cytoplasm full of dark brown granules compatible with melanin. HE, 10x. (C) Intracytoplasmic dark brown granules (melanin) impairing visualization of nuclei in most neoplastic cells (red arrow). (D) Neoplastic cells with positive immunostaining by the melanoma cocktail (HMB-45, MART-1/Melan-A, tyrosinase and ki67), evidenced by the brown staining of the chromogen 3,3-diaminobenzidine (DAB). Counterstaining with hematoxylin, 20x.